

**This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- **BLACK BORDERS**
- **TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- **FADED TEXT**
- **ILLEGIBLE TEXT**
- **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- **COLORED PHOTOS**
- **BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS**
- **GRAY SCALE DOCUMENTS**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTC)

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

PCT/ER 00/00104
RO/KR 11.02.2000

REC'D 29 FEB 2000

WIPO PCT

대한민국 특허청
KOREAN INDUSTRIAL
PROPERTY OFFICE

ETU

별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Industrial
Property Office.

출원번호 : 1999년 특허출원 제4860호
Application Number

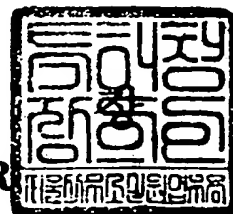
출원년월일 : 1999년 2월 11일
Date of Application

출원인 : 한미약품공업 주식회사 외 1인
Applicant(s)



1999 년 11월 1 일

특 허 청
COMMISSIONER



【서류명】	출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	1999.02.11
【발명의 명칭】	조류의 배자생식세포주 생산방법
【발명의 영문명칭】	Method for Producing Embryonic Germ Cell Line in Aves
【출원인】	
【성명】	한재용
【출원인코드】	4-1998-043429-4
【출원인】	
【명칭】	한미약품공업 주식회사
【출원인코드】	1-1998-004411-2
【대리인】	
【성명】	이한영
【대리인코드】	9-1998-000375-1
【포괄위임등록번호】	1999-007917-5
【포괄위임등록번호】	1999-006318-9
【발명자】	
【성명】	한재용
【출원인코드】	4-1998-043429-4
【발명자】	
【성명의 국문표기】	박태섭
【성명의 영문표기】	PARK, Tae Sub
【주민등록번호】	730629-1623812
【우편번호】	431-058
【주소】	경기도 안양시 동안구 달안동 셋별아파트 606동 1106호
【국적】	KR
【심사청구】	청구
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인 이한영 (인)
【수수료】	
【기본출원료】	17 면 29,000 원
【가산출원료】	0 면 0 원

1019990004860

1999/11/1

【우선권주장료】	0	건	0	원
【심사청구료】	10	항	429,000	원
【합계】	458,000			원

【요약서】**【요약】**

본 발명은 조류의 배자로부터 분리된 원시생식세포를 적당한 세포성장인자, 세포분화 억제인자 및 기저세포를 포함하는 배지에서 계대배양하는 단계를 포함하는 조류의 배자생식 세포주 생산방법에 관한 것이다. 본 발명자들은 화이트 레그혼의 초기 배자로부터 분리된 원시생식기 유래 원시생식세포('gPGC')를 적절한 농도의 SCF(stem cell factor), bFGF(basic fibroblast growth factor), IL-11(interleukin-11) 및 IGF-I(insulin-like growth factor-I)을 포함하는 배지에서 LIF(leukemia inhibitory factor) 첨가에 의하여 세포분화를 억제하면서 7 내지 10일 동안 배양하여 콜로니 형성을 유도하였으며, 콜로니를 형성한 gPGC를 분열능력을 가진 닭 배자 섬유아 세포('CEF')를 기저세포로 사용하여, 전기와 동일한 배지에서 계대배양하여 배자생식세포주의 콜로니를 형성시킬 수 있었다. 이와 같이 gPGC로부터 확립된 배자생식세포주 중 일부는 10회 이상의 계대배양에 성공하여, 16주 이상 배양이 가능하였다. 본 발명의 방법에 의하여 생산된 배자생식세포주는 조류에 있어서 생식세포의 분화 및 유전자 각인(genomic imprinting) 연구에 매우 유용할 것으로 사료되며, 궁극적으로는 외래 유전자 주입 및 유전자 표적(gene targeting)을 이용한 형질전환 가금의 생산을 통하여 생체반응기(bioreactor) 또는 우수한 형질품종의 개발 등을 실현시킬 수 있을 것이다.

【대표도】

도 1

【명세서】**【발명의 명칭】**

조류의 배자생식세포주 생산방법 {Method for Producing Embryonic Germ Cell Line in Aves}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 닭 배자 섬유아세포를 기저세포로 하여 3회 연속 계대배양한 닭 배자생식세포주의 실체현미경 사진이다.

【발명의 상세한 설명】**【발명의 목적】****【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】**

<2> 본 발명은 조류의 배자생식세포주 생산방법에 관한 것이다. 좀 더 구체적으로, 본 발명은 조류의 배자로부터 분리된 원시생식세포를 적당한 세포성장인자, 세포분화 억제인자 및 기저세포를 포함하는 배지에서 계대배양하는 단계를 포함하는 조류의 배자생식세포주 생산방법에 관한 것이다.

<3> 배간세포(embryonic stem cell, 'ES cell')는 포배기 또는 상실기의 배자(embryo)로부터 유래된, 미분화된 다능성(pluripotent)의 세포주를 말하며, 현재까지 마우스(참조: Evans, M. J. and Kaufman, M. H., *Nature*, 292:154-156(1981); Bradley, A. et al., *Nature*, 309:255-256(1984)), 소(참조: First, N. L. et al., *Reprod. Fertil. Dev.*,

6:553-562(1994)), 돼지(참조: Wheeler, M. B., *Reprod. Fertil. Dev.*, 6:563-568(1994)), 양(참조: Piedrahita, J. A. et al., *Theriogenology*, 34:879-901(1990)), 토끼(참조: Giles, J. R. et al., *Mol. Reprod. Dev.*, 36:130-138(1993)) 및 쥐(참조: Iannaccone, P. M., et al., *Dev. Biol.*, 163:288-292(1994)) 등에서 그 특성이 규명된 바 있으며, 최근에는 사람의 배간세포주에 관한 연구결과가 보고되기도 하였다(참조: Thomson, J. A. et al., *Science*, 282:1145-1147(1998)). 배간세포의 이용성은 발생학 연구, 전능성(totipotent) 세포의 특성 연구 및 유전자 조작에 의한 형질전환 가축의 생산에 이르기까지 매우 광범위하다. 그러나, 배간세포를 이용하여 생식선 키메라를 확립하는데 성공한 예는 유일하게 마우스에서만 보고되었으며(참조: Bradley, A. et al., *Nature*, 309:255-256(1984)), 아직까지 마우스 이외의 동물에서는 배간세포가 생식세포로 전이(germ-line transmission)되는데 실패하여 생식선 키메라를 확립하는데 성공하지 못하고 있다.

<4> 최근에는 원시생식세포(primordial germ cell, 'PGC')가 다능성을 지닌 새로운 배간세포로서 주목받고 있는데(참조: Resnick, J. L. et al.,

Nature, 359:550-551(1992)), PGC는 성성숙 후 정자나 난자가 되는 전구세포로서, 마우스에서는 중배엽(mesoderm)으로부터 유래되어 배자 발생 초기에 원시생식기로 이동하게 된다(참조: Ginsburg, M. et al., *Development*, 110:521-528(1990)). 아올러, 고딘(Godin) 등은 마우스의 PGC를 분열억제 처리된 STO 세포를 기저세포(feeder layer)로 하고, SCF(stem cell factor), LIF(leukemia inhibitory factor) 및 bFGF(basic fibroblast growth factor) 등의 성장인자가 첨가된 배지를 이용하여 체외배양에 성공하였으며(참조: Godin, I. et al., *Nature*, 352:807-809(1991); Dolci, S. et al., *Nature*, 352:809-811(1991); Matsui, Y. et al., *Nature*, 353:750-752(1991); Resnick, J. L. et al., *Nature*, 359:550-551(1992)), 레스닉(Resnick) 등은 최초로 마우스 PGC의 계대 배양에 성공하고, 이러한 세포를 배자생식세포주(embryonic germ cell line, 'EG cell line')라 명명하였다(참조: Resnick, J. L. et al., *Nature*, 359:550-551(1992)). 또한, 라보스키(Labosky) 등은 마우스 배자생식세포를 이용하여 생식선 키메라를 생산하는데 성공함으로써, 배자생식세포주를 이용한 다음 세대로의 지속적인 유전적 전이 가능성을 제시하였다(참조: Labosky, P. A. et al., *Development*, 120:3197-3204(1994)). 그러나, 현재까지 마우스 이외의 다른 동물에 있어서는 소(참조: Cherny, R. A. et al., *Reprod. Fertil. Dev.*, 6:569-575(1994))와 돼지(참조: Shim, H. et al., *Biol. Reprod.*, 57:1089-1095(1997); Piedrahita, J. A. et al., *J. Reprod. Fertil.(suppl)*, 52:245-254(1997))에서 배자생식세포에 대한 형태학적 검증, 알칼리 포스파타제 역가 측정, 배자체(embryoid body) 형성 등에 대한 연구보고가 되어 있을 뿐, 생식선 키메라 확립의 성공은 보고된 예가 없으며, 특히 포유류 이외의 종에서는 배자생식세포주의 생산에 관한 보고가 전무한 실정이다.

- <5> 한편, 조류의 원시생식세포는 포유류에서와는 다른 이동 과정을 보인다. 조류의 원시생식세포는 외배엽(epiblast)에서 유래되어 배양 18 내지 19시간(배발달단계 4) 내에 생식선 반월(germinal crescent)로 이동하고(참조: Eyal-Giladi, H. and Kochav, S., *Dev. Biol.*, 49:321-337(1976); Swift, C. H., *Am. J. Anat.*, 15:483-516(1914); Hamburger, V. and Hamilton, H. L., *J. Morphol.*, 88:49-92(1951)), 배발달단계 10 내지 12에서 생식선 반월로부터 혈관으로 이동한 다음(참조: Ando, Y. and Fujimoto, T., *Dev. Growth Differ.*, 25:345-352(1983); Ukeshima, A. et al., *J. Electron Microsc.*, 40:124-128(1991)), 배발달단계 17까지 혈액을 따라 순환하여 최종적으로 원시생식기 내에 정착한 후, 분열 분화하게 된다(참조: Nieuwkoop, P. D. and Sutasurya, L. A. (1979) The migration of the primordial germ cells, In *Primordial Germ Cells in the Chordates*, pp. 113-127).
- <6> 알리올리(Allioli) 등은 최초로 닭의 원시생식기로부터 분리된 원시생식세포(gonadal PGC, 'gPGC')를 5일 이내의 단기 체외배양에 성공하였으며(참조: Allioli, N. et al., *Dev. Biol.*, 165:30-37(1994)), 장(Chang) 등은 닭의 gPGC를 원시생식기로부터 유래된 기저세포 상에서 5일간 체외배양하는 데 성공하고, 아울러 전기 배양된 gPGC를 수용체 배자 내로 재주입하였을 때 원시생식기로의 이동 능력을 보유하고 있음을 보고하였다(참조: Chang, I. et al., *Cell Biol. Int.*, 19:569-676(1995 b)). 또한, 장(Chang) 등은 최근 체외에서 5일간 배양된 gPGC를 이용하여 생식선 키메라 닭을 생산하는데 성공한 바 있다(참조: Chang, I. et al., *Cell Biol. Int.*, 21:495-499(1997)). 그러나, 외래 유전자 전이(transfection) 및 유전자 표적(gene targeting) 등을 이용한 형질전환 가금의 생산을 위해서는 주입된 외래 유전자의 세대간 전달이 가능한 세포주의 확보가 선결되어야 하는 바, 조류

에 적절한 배자생식세포주 생산방법을 확립하여야 할 필요성이 절실히 요구되어 왔다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<7> 이에, 본 발명자들은 안정하게 지속적으로 분열할 수 있는 조류의 배자생식세포주를 확립하고자 예의 연구노력한 결과, 닭의 초기 배자로부터 분리된 원시생식기 유래 원시생식세포를 적절한 조건에서 계대배양하여 다능성(pluripotent)의 배자생식세포주를 확립하는데 성공하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

<8> 결국, 본 발명의 주된 목적은 조류의 배자생식세포주 생산방법을 제공하는 것이다.

【발명의 구성 및 작용】

<9> 이하, 본 발명의 조류 배자생식세포주 생산방법을 보다 구체적으로 설명하고자 한다.

<10> 본 발명자들은 5 내지 6일령(배발달단계 28)의 화이트 레그혼의 배자로부터 트립신-EDTA 처리에 의하여 원시생식기 유래 원시생식세포(gonadal primordial germ cell, 'gPGC')를 포함하는 혼합세포 현탁액을 제조하였다. 전기 혼합세포 현탁액을 적절한 농도의 SCF(stem cell factor), bFGF(basic fibroblast growth

factor), IL-11(interleukin-11) 및 IGF-I(insulin-like growth factor-I) 등의 세포성장인자와 닭 혈청을 포함하는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium) 배지에서, LIF(leukemia inhibitory factor) 첨가에 의하여 세포분화를 억제하면서 37℃의 5% CO₂ 배양기에서 배양하여 콜로니 형성을 유도하였다. 그 결과, 배양을 시작한 지 7 내지 10일경에 배선세포 말단 기저세포(germinal ridge stroma cell, 'GRSC') 층위에 gPGC의 콜로니가 형성되는 것이 관찰되었다. 전기 콜로니들을 조심스럽게 반복적으로 파이펫팅하여 개개의 세포들을 분리한 후, 원심분리로 세포를 회수하고, 회수된 세포를 적당량의 새 배지에 재부유시킨 다음, 닭의 배자 섬유아 세포(chicken embryonic fibroblast, 'CEF')와 함께 새로운 플레이트에 분주하였다. 배양 후 7 내지 10일 경에 배자생식세포주의 콜로니가 형성되었으며, 이와 같이 gPGC로부터 확립된 배자생식세포주 중 일부는 10회 이상의 계대배양에 성공하여, 16주 이상 배양이 가능하였다.

<11> 한편, 본 발명의 배자생식세포주 제조방법은 조류로서 하기 실시예에서 예시한 화이트 레그혼 등의 닭 이외에도 칠면조, 메추리, 꿩 및 오리를 포함하는 여러가지 조류에서도 적용될 수 있으며, 원시생식세포는 생식기 유래 원시생식세포 이외에도 혈액 또는 생식반월로부터 유래된 원시생식세포를 이용하더라도 실행이 가능한데, 원시생식세포를 분리하고자 하는 초기 배자의 배발달단계는 본 발명의 목적을 저해하지 않는 한 특별히 제한되는 것은 아니며, 조류와 원시생식세포를 분리하고자 하는 기관의 종류에 따라 달라질 수 있다.

<12> 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가

이들 실시예에 국한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

<13> 실시예 1: 원시생식세포의 분리 및 배양

<14> 원시생식세포를 획득하기 위한 수정란은 서울대학교 농업생명과학대학 부속 실험목장에서 사육된 화이트 레그혼(White Leghorn, 'WL')으로부터 확보하여, 온도가 37.5℃, 습도가 60 내지 70%인 부화기에서 5.5일 동안(즉, 배발달단계 28에 이를 때까지) 배양하였다.

<15> 전기 5.5일간 배양한 화이트 레그혼의 수정란으로부터 배자를 추출한 다음, 마그네슘을 제거한 인산완충생리식염수(phosphate buffered saline, 'PBS')가 담긴 100mm 페트리 디쉬에서 세척하여 난황 및 혈액을 제거하였다. 전기 배자를 검은 왁스로 코팅된 페트리 디쉬에 옮겨 담고, 실체 현미경하에서 원시생식기를 미세한 포셉으로 떼어낸 다음, 트립신(0.25%(v/v)-EDTA(0.05%(v/v)))를 처리하여 원시생식기를 구성하는 개개의 세포들이 분리되도록 한 다음, 최종적으로 10% 우태아혈청(fetal bovine serum, 'FBS')이 포함된 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium, Gibco BRL, USA)을 첨가하여 트립신의 작용을 중단시켜, 원시생식기 유래 원시생식세포(gonadal primordial germ cell, 'gPGC')를 포함하는 혼합세포 현탁액을 수득하였다.

<16> 이어서, 배자생식세포주 확립을 위한 적절한 배양조건을 확립하고자, 마우스 원시생식세포의 체외 생존 및 분열에 중요한 인자로 알려져 있는 SCF(stem cell factor), LIF(leukemia inhibitory factor) 및 bFGF(basic fibroblast growth factor) 이외에, 체외

에서 배양된 마우스 원시생식세포의 성장을 촉진시키며 닭의 배자세포(embryonic cell)의 성장에도 영향을 주는 것으로 알려진 IL-11(interleukin-11)(참조: Koshimizu et al., , 122:1235-1242(1996); Pain et al., *Development*, 122:2339-2348(1996))과 닭의 원시생식세포의 분열에 관여하는 것으로 알려진 IGF-I(insulin-like growth factor)(참조: Chang et al., *Cell Biol. Int.*, 19:143-149 (1995a))을 첨가하거나 첨가하지 않은 DMEM 배지(Gibco BRL, USA)에 전기로부터 수득한 혼합세포 현탁액의 일부를 희석하고, 37℃의 5% CO₂ 배양기에서 원시생식세포의 콜로니가 형성될 때까지 배양하였다. 그 결과, IL-11과 IGF-I의 첨가없이 콜로니가 관찰되지 않았기 때문에, 닭의 원시생식기 유래 원시생식세포의 장기생존과 분열 및 콜로니 형성에는 SCF, LIF 및 bFGF와 더불어 IL-11 및 IGF-I이 필수적으로 요구됨을 확인하였다.

<17> 실시예 2: 배자생식세포주의 확립

<18> 전기 실시예 1로부터 수득한 혼합세포 현탁액을 10% FBS, 2% 닭 혈청, 1mM 피루빈산 나트륨, 2mM L-글루타민, 5.5×10^{-5} M 2-머캅토에탄올, 100 μ g/ml 스트렙토마이신, 100units/ml 페니실린, 5ng/ml hSCF(human stem cell factor), 10units/ml mLIF(murine leukemia inhibitory factor), 10ng/ml bFGF(basic fibroblast growth factor), 0.04ng/ml h-IL-11(human interleukin-11) 및 10ng/ml IGF-I(insulin-like growth factor-I)이 포함된 DMEM 배지(Gibco BRL, USA)에 적절한 농도로 희석하고,

37℃의 5% CO₂ 배양기에서 원시생식세포의 콜로니가 형성될 때까지 배양하였다. 배양을 시작한지 약 7 내지 10일 경에 배선세포 말단 기저세포(germinal ridge stroma cell, 'GRSC') 층위에 원시생식세포의 콜로니가 형성된 것이 관찰되었다. 콜로니를 형성한 원시생식세포를 계대배양하고자, 배양액을 파이펫팅하여 플레이트에 밀착된 배선세포 말단기저세포 층으로부터 원시생식세포만을 분리하고, 분리된 원시생식세포를 개개의 세포가 분리될 때까지 파이펫팅 한 다음, 200 µg에서 5분간 원심분리하여 세포를 회수하였다. 회수된 세포를 적당량의 전기와 동일한 조성의 DMEM 배지에 재부유시킨 다음, 분열억제 처리가 되지 않은 닭 배자 섬유아 세포(chicken embryonic fibroblast, 'CEF')와 함께 새로운 플레이트에 분주하고, 37℃의 5% CO₂ 배양기에서 배자생식세포주의 콜로니가 형성될 때까지 배양하였다. 계대배양을 위한 초기 실험에서, 미토마이신(mitomycin)에 의하여 분열억제 처리된 STO 세포나 CEF를 기저세포로 사용하는 경우에는 배자생식세포의 분열이 확인되지 않았기 때문에, 본 발명에서는 배자생식세포주의 계대배양시 분열 억제 처리가 되지 않은 CEF를 기저세포로 사용하였다. 이후에 이루어진 계대배양은 7 내지 10일 간격으로 실시하였으며, 배양조건은 전기와 동일하였다. 이와 같이 원시생식기 유래 원시생식세포로부터 확립된 배자생식세포주 중 일부는 10회 이상의 계대배양에 성공하여 16주 이상 배양이 가능하였다.

<19> 한편, 전기와 같이 배양된 닭의 배자생식세포주를 실체현미경으로 관찰한 결과, 닭의 배자생식세포주는 개개의 세포 형태에 있어서는 마우스의 배간세포주(ES cell line)나 배자생식세포주(EG cell line)와 약간의 차이를 보였으나, 전체적인 콜로니 형태는 마우스 또는 돼지의 배간세포주나 배자생식세포주와 유사하였다(참조: Wobus et al.,

Exp. Cell. Res., 152:212-219(1984); Matsui et al., *Cell*, 70:841-847(1992); Resnick et al., *Nature*, 359:550-551(1992); Shim et al., *Biol. Reprod.*, 57:1089-1095(1997); Piedrahita et al., *Biol. Reprod.*, 58:1321-1329(1998)). 즉, 닭의 배자생식세포주의 콜로니는 대부분 원형의 형태를 가지고, 기저세포와 강하게 결합하고 있지 않았으며, 콜로니가 여러 층으로 구성되고 콜로니 간의 경계가 뚜렷하였다. 그리고, 핵인(nucleoli)은 뚜렷하게 관찰되지 않았으나, 큰 핵과 상대적으로 적은 세포질 등의 특징을 가지고 있었다. 또한, 마우스의 배간세포주나 배자생식세포주와는 달리 세포간에 강한 결합이 없어 각각의 세포들을 쉽게 구분할 수 있었다(참조: 도 1). 도 1은 CEF를 기저세포로 하여 3회 연속 계대배양한 닭 배자생식세포주의 실체현미경 사진이다.

【발명의 효과】

<20> 이상에서 상세히 설명하고 입증하였듯이, 본 발명은 조류의 배자로부터 분리된 원시생식기 유래 원시생식세포를 적당한 세포성장인자와 기저세포를 포함하는 배지에서 세포분화를 억제하면서 계대배양하는 단계를 포함하는 조류의 배자생식세포주 생산방법을 제공한다. 본 발명의 방법에 의하여 생산된 배자생식세포주는 조류에 있어서 생식세포의 분화 및 유전자 각인(genomic imprinting) 연구에 매우 유용할 것으로 사료되며, 궁극적으로는 외래 유전자 주입 및 유전자 표적(gene targeting)을 이용한 형질전환 가금의 생산을 통하여 생체 반응기(bioreactor) 또는 우수한 형질품종의 개발 등을 실현시킬 수 있을 것이다.

【특허청구범위】**【청구항 1】**

(i) 조류의 초기 배자로부터 분리된 원시생식세포를 세포성장인자 및 세포분화 억제인자를 포함하며 원시생식세포의 콜로니 형성을 촉진하는 배지에서 원시생식세포의 콜로니가 형성되는 시기에 이를 때까지 배양하는 단계;

(ii) 전기 콜로니를 형성한 원시생식세포를 분리 회수하여 전기와 동일한 배지에 현탁하고, 전기 조류의 배자 섬유아세포를 기저세포로 이용하여 배자생식세포주의 형태학적 특징을 나타내는 세포의 콜로니가 형성될 때까지 배양하는 단계; 및,

(iii) 전기 배자생식세포주의 형태학적 특징을 나타내는 세포를 회수하여 전기와 동일한 배지에서 계대배양하는 단계를 포함하는 조류의 배자생식세포주 생산방법.

【청구항 2】

제 1항에 있어서,

조류는 칠면조, 닭, 메추리, 꿩 또는 오리인 것을 특징으로 하는

조류의 배자생식세포주 생산방법.

【청구항 3】

제 1항에 있어서,

초기 배자는 배발달단계 4 내지 28의 배자인 것을 특징으로 하는

조류의 배자생식세포주 생산방법.

【청구항 4】

제 1항에 있어서,

원시생식세포는 원시생식기, 혈액 또는 생식반월로부터 유래된 것을 특징으로 하는
조류의 배자생식세포주 생산방법.

【청구항 5】

제 1항에 있어서,

세포성장인자는 SCF(stem cell factor), bFGF(basic fibroblast growth factor),
IL-11(interleukin-11) 및 IGF-I(insulin-like growth factor I)으로 구성되는 그룹으로
부터 선택되는 한종 이상인 것을 특징으로 하는
조류의 배자생식세포주 생산방법.

【청구항 6】

제 1항에 있어서,

세포분화 억제인자는 LIF(leukemia inhibitory factor)인 것을 특징으로 하는
조류의 배자생식세포주 생산방법.

【청구항 7】

제 1항에 있어서,

배지는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium) 또는 그의 기능적 동가물인
것을 특징으로 하는

조류의 배자생식세포주 생산방법.

【청구항 8】

제 1항에 있어서,

배지는 닭 혈청을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는

조류의 배자생식세포주 생산방법.

【청구항 9】

제 1항에 있어서,

배지는 피루빈산, 글루타민 및 2-머캅토에탄올로 구성되는 그룹으로부터 선택되는
한종 이상의 물질을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는

조류의 배자생식세포주 생산방법.

【청구항 10】

제 1항에 있어서,

1019990004860

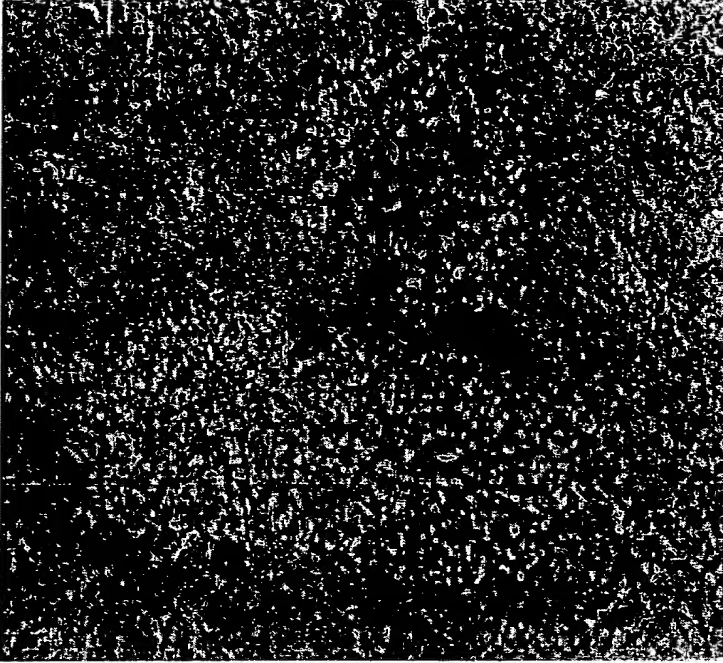
1999/11/1

조류의 배자 섬유아세포는 분열중인 닭의 배자 섬유아세포인 것을 특징으로 하는

조류의 배자생식세포주 생산방법.

【도면】

【도 1】



THIS PAGE BLANK (USPTO)